



등록특허 10-2415797



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년07월04일
(11) 등록번호 10-2415797
(24) 등록일자 2022년06월28일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 413/12 (2006.01) *A61K 31/4245* (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 413/12 (2013.01)
A61K 31/4245 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7026570
- (22) 출원일자(국제) 2017년03월14일
심사청구일자 2020년03월12일
- (85) 번역문제출일자 2018년09월13일
- (65) 공개번호 10-2018-0117640
- (43) 공개일자 2018년10월29일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2017/055885
- (87) 국제공개번호 WO 2017/157873
국제공개일자 2017년09월21일
- (30) 우선권주장
16160790.8 2016년03월17일
유럽특허청(EPO)(EP)
- (56) 선행기술조사문현
WO2015165835 A1
WO2016016292 A1
- (73) 특허권자
에프. 호프만-라 로슈 아게
스위스 채하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124
- (72) 발명자
갈레이 귀도
스위스 4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124 에프. 호
프만-라 로슈 아게
회너 마리우스
스위스 4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124 에프. 호
프만-라 로슈 아게
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
제일특허법인(유)

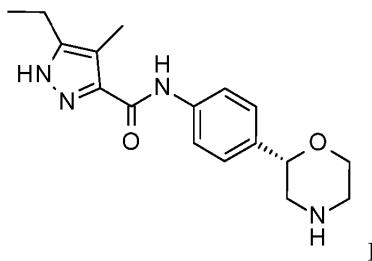
전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 이기철

(54) 발명의 명칭 TAAR의 작용제로서 활성을 갖는 5-에틸-4-메틸-피라졸-3-카복스아미드 유도체

(57) 요 약

본 발명은, 특정 CNS 질환의 치료를 위한, 미량 아민 결합 수용체(TAAR), 특히 TAAR1에 우수한 친화도를 갖는 하기 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 적합한 산 부가 염에 관한 것이다:



(52) CPC특허분류

A61P 25/00 (2018.01)

(72) 발명자

노크로쓰 로저

스위스 4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124 에프. 호

프만-라 로슈 아게

펠리거 필리페

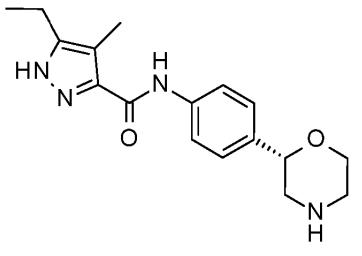
스위스 4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124 에프. 호
프만-라 로슈 아게

명세서

청구범위

청구항 1

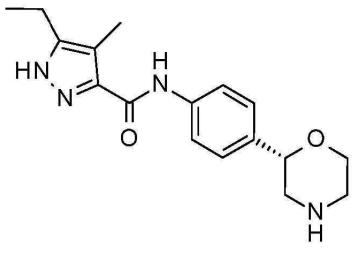
5-에틸-4-메틸-N-[4-[(2S) 모폴린-2-일]페닐]-1H-피라졸-3-카복스아미드인 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 산 부가 염:



I

청구항 2

5-에틸-4-메틸-N-[4-[(2S) 모폴린-2-일]페닐]-1H-피라졸-3-카복스아미드인, 하기 화학식 I의 화합물:

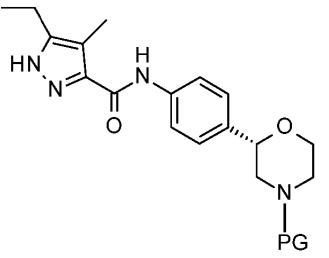


I

청구항 3

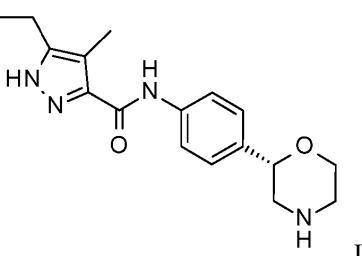
제 1 항에 따른 화학식 I의 화합물의 제조 방법으로서, 상기 방법이,

a) 구조식



3

의 화합물로부터 N-보호기(PG)를 절단(cleaving off)하여, 하기 화학식 I의 화합물을 수득하는 단계:



I

[상기 식에서, PG는 -C(O)O-3급-부틸(BOC)로부터 선택되는 N-보호기이다], 및

b) 필요한 경우, 수득된 화합물을 약학적으로 허용가능한 산 부가 염으로 전환시키는 단계를 포함하는, 제조 방법.

청구항 4

우울증, 불안 장애, 양극성 장애, 주의력 결핍 과잉행동 장애(ADHD), 정신분열증, 파킨슨병, 알츠하이머병, 뇌전증, 편두통, 고혈압, 물질 남용, 중독, 섭식 장애, 당뇨병, 당뇨병성 합병증, 비만, 이상지질혈증, 에너지 소모 및 동화 장애, 체온 항상성 장애 및 기능부전, 및 수면 및 생리기능 주기 장애로 이루어진 군으로부터 선택되는 질환 또는 장애의 치료를 위한, 제 1 항에 따른 화학식 I의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 부형제(excipient)를 포함하는 약학 조성물.

청구항 5

제 4 항에 있어서,
상기 질환 또는 장애가 우울증인, 약학 조성물.

청구항 6

제 4 항에 있어서,
상기 질환 또는 장애가 양극성 장애인, 약학 조성물.

청구항 7

제 4 항에 있어서,
상기 질환 또는 장애가 정신분열증인, 약학 조성물.

청구항 8

제 4 항에 있어서,
상기 질환 또는 장애가 물질 남용인, 약학 조성물.

청구항 9

제 4 항에 있어서,
상기 질환 또는 장애가 중독인, 약학 조성물.

청구항 10

제 4 항에 있어서,
상기 질환 또는 장애가 섭식 장애인, 약학 조성물.

청구항 11

제 4 항에 있어서,
상기 질환 또는 장애가 당뇨병인, 약학 조성물.

청구항 12

우울증, 불안 장애, 양극성 장애, 주의력 결핍 과잉행동 장애(ADHD), 정신분열증, 파킨슨병, 알츠하이머병, 뇌전증, 편두통, 고혈압, 물질 남용, 중독, 섭식 장애, 당뇨병, 당뇨병성 합병증, 비만, 이상지질혈증, 에너지 소모 및 동화 장애, 체온 항상성 장애 및 기능부전, 및 수면 및 생리기능 주기 장애로 이루어진 군으로부터 선택되는 질환 또는 장애의 치료를 위한, 정제, 코팅된 정제, 당의정, 경질 및 연질 젤라틴 캡슐, 용액, 유화액 및 혼탁액으로 이루어진 군으로부터 선택되는 형태의 제 1 항에 따른 화합물을 포함하는 경구 약학 제제.

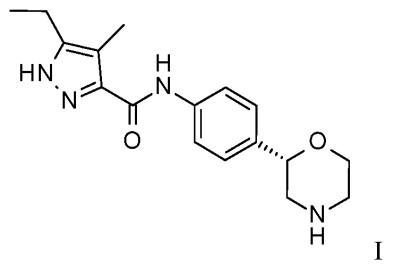
청구항 13

우울증, 불안 장애, 양극성 장애, 주의력 결핍 과잉행동 장애(ADHD), 정신분열증, 파킨슨병, 알츠하이머병, 뇌전증, 편두통, 고혈압, 물질 남용, 중독, 섭식 장애, 당뇨병, 당뇨병성 합병증, 비만, 이상지질혈증, 에너지 소모 및 동화 장애, 체온 항상성 장애 및 기능부전, 및 수면 및 생리기능 주기 장애로 이루어진 군으로부터 선택되는 질환 또는 장애의 치료를 위한, 정제, 코팅된 정제, 당의정, 경질 및 연질 젤라틴 캡슐, 용액, 유화액 및 혼탁액으로 이루어진 군으로부터 선택되는 형태의 제 2 항에 따른 화합물을 포함하는 경구 약학 제제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 적합한 산 부가 염에 관한 것이다:



[0002]

[0003] 본원에 개시되고 상기 화학식 I에 의해 포함되는 화합물은 호변 이성질성을 나타낼 수 있다. 본 발명은 이런 화합물의 임의의 호변 이성질체 형태 또는 이러한 형태들의 혼합물을 포함하며, 상기 화학식에 도시된 임의의 하나의 호변 이성질체 형태로 제한되지 않는 것을 의도한다.

[0004] 이제, 화학식 I의 화합물(5-에틸-4-메틸-N-[4-[(2S) 모폴린-2-일]페닐]-1H-피라졸-3-카복스아미드)은 미량 아민 결합 수용체(TAAR), 특히 TAAR1에 대한 우수한 친화도를 가지며 종래 기술의 화합물에 비해 부작용이 적음이 확인되었다.

[0005] 마우스 TAAR1 및 래트 TAAR1의 유사한 리간드가 WO2011/076678 및 WO2012/16826에 개시되어 있다.

[0006] 화학식 I의 화합물 및 이의 약학적으로 유용한 부가 염은 가치있는 약리학적 성질을 갖는다. 구체적으로, 본 발명의 화합물은 인간 미량 아민 결합 수용체 1(hTAAR1)의 부분 작용제인 것으로 밝혀졌다.

[0007] 본 발명의 화합물은 종래 기술의 화합물에 비해 중요한 이점을 가지며, 이런 이점들은

[0008] - 인간 TAAR1 수용체에서의 강력한 작용제 활성,

[0009] - 도파민 운반체(DAT)에 대한 선택성,

[0010] - hERG 이온 채널에 대한 선택성,

[0011] - 낮은 양친매성 백터를 가지므로, 약물-유발성 인지질증(DIPL)을 야기할 위험이 적음(아래 참조).

[0012] 그러므로, 화학식 I의 화합물은 우울증, 불안 장애, 양극성 장애, 주의력 결핍 과잉행동 장애(ADHD), 스트레스-관련 장애, 정신병적 장애, 예컨대 정신분열증, 신경계 질환, 예컨대 파킨슨병, 신경퇴행성 장애, 예컨대 알츠하이머병, 뇌전증, 편두통, 고혈압, 중독, 물질 남용 및 대사 장애, 예컨대 섭식 장애, 당뇨병, 당뇨병성 합병증, 비만, 이상지질혈증, 에너지 소모 및 동화 장애, 체온 항상성 장애 및 기능부전, 수면 및 생리기능 주기 장애 및 심혈관계 장애의 치료에 사용될 수 있다.

배경 기술

[0013] 전통적인 생물기원(biogenic) 아민(세로토닌, 노르에피네프린, 에피네프린, 도파민, 히스타민)은 중추 및 말초 신경계에서 신경전달물질로서 중요한 역할을 한다^[1]. 이의 합성 및 저장뿐만 아니라, 방출 후 이의 분해 및 재흡수는 밀접하게 조절된다. 생물기원 아민 수준의 불균형은 많은 병리학적 증상하에 변화된(altered) 뇌 기능에 대해 책임이 있는 것으로 공지되어 있다^[2-5]. 두 번째 부류의 내인성 아민 화합물, 이른바 미량 아민(TA)은 구조, 대사 및 아세포(subcellular) 편재화(localization) 면에서 전통적인 생물기원 아민과 상당히 중복된다. TA는 p-티라민, β-페닐에틸아민, 트립타민 및 옥토파민을 포함하며, 이들은 포유류의 신경계 내에 전통적인 생

물기원 아민보다 일반적으로 낮은 수준으로 존재한다^[6].

[0014] TA의 조절장애는 다양한 정신의학적 질환, 예컨대 정신분열증 및 우울증^[7] 및 다른 질환, 예컨대 주의력 결핍 과잉행동 장애, 편두통, 파킨슨병, 물질 남용 및 섭식 장애^[8,9]와 관련되어 있다.

[0015] 오랫동안, TA-특이적 수용체는 인간 및 다른 포유류의 CNS에서 해부학적으로 구별되는(anatomically discrete) 고-친화도 TA 결합 부위에 기반하여 단지 가정되어 왔다^[10,11]. 따라서, TA의 약리학적 효과는 전통적인 생물기원 아민의 공지된 기전을 통해, 이의 방출을 유발하거나 이의 재흡수를 억제함으로써, 또는 이의 수용체 시스템과의 "교차-반응(cross-reacting)"에 의해 매개되는 것으로 여겨진다^[9,12,13]. 이러한 관점은 새로운 G-단백질 결합 수용체(GPCR) 계열의 몇몇 구성원인 미량 아민 결합 수용체(TAAR)의 확인에 의해 상당히 변화하였다^[7,14]. 인간에게는 9개의 TAAR 유전자(3개의 위유전자(pseudogene) 포함)가 있으며, 마우스에는 16개의 유전자(1개의 위유전자 포함)가 있다. TAAR 유전자는 인트론을 함유하지 않으며(한 가지 예외로, TAAR2는 1개의 인트론을 함유함), 동일한 염색체 단편상에 서로 이웃하여 위치한다. 상세한 GPCR 약물 특이 분자단 유사성 비교 및 약리학적 데이터와 일치하는 수용체 유전자의 계통발생론적 상관관계는 이러한 수용체가 3개의 상이한 아파(subfamily)를 형성함을 시사한다^[7,14]. TAAR1은 인간과 설치류 사이에서 고도로 보존된 4개의 유전자(TAAR1 내지 4)의 제 1 하위부류이다. TA는 G_aS를 통해 TAAR1을 활성화시킨다. TA의 조절장애는 다양한 질환, 예컨대 우울증, 불안 장애, 양극성 장애, 주의력 결핍 과잉행동 장애(ADHD), 스트레스-관련 장애, 정신병적 장애, 예컨대 정신분열증, 신경계 질환, 예컨대 파킨슨병, 신경퇴행성 장애, 예컨대 알츠하이머병, 뇌전증, 편두통, 고혈압, 중독, 물질 남용 및 대사 장애, 예컨대 섭식 장애, 당뇨병, 당뇨병성 합병증, 비만, 이상지질혈증, 에너지 소모 및 동화 장애, 체온 항상성 장애 및 기능부전, 수면 및 생리기능 주기 장애 및 심혈관계 장애의 병인에 기여하는 것으로 나타났다.

[0016] 따라서, 미량 아민 결합 수용체에 대한 지식을 증가시키기 위한 광범위한 관심이 존재한다.

[0017] 참고 문헌:

- [0018] [1] Deutch, A.Y. and Roth, R.H.; "Neurotransmitters." In *Fundamental Neuroscience* (2nd Edn) (Zigmond, M.J., Bloom, F.E., Landis, S.C., Roberts, J.L, and Squire, L.R., Eds.), pp. 193-234, Academic Press (1999);
- [0019] [2] Wong, M.L. and Licinio, J.; "Research and treatment approaches to depression." *Nat. Rev. Neurosci.* **2001**, 2, 343-351;
- [0020] [3] Carlsson, A. et al.; "Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence." *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2001**, 41, 237-260;
- [0021] [4] Tuite, P. and Riss, J.; "Recent developments in the pharmacological treatment of Parkinson's disease." *Expert Opin. Investig. Drugs* **2003**, 12, 1335-1352;
- [0022] [5] Castellanos, F.X. and Tannock, R.; "Neuroscience of attention-deficit/hyperactivity disorder: the search for endophenotypes." *Nat. Rev. Neurosci.* **2002**, 3, 617-628;
- [0023] [6] Usdin, Earl; Sandler, Merton; Editors; *Psychopharmacology Series, Vol. 1: Trace Amines and the Brain.* [Proceedings of a Study Group at the 14th Annual Meeting of the American College of Neuropsychopharmacology, San Juan, Puerto Rico] (1976);
- [0024] [7] Lindemann, L. and Hoener, M.; "A renaissance in trace amines inspired by a novel GPCR family." *Trends in Pharmacol. Sci.* **2005**, 26, 274-281;
- [0025] [8] Branchek, T.A. and Blackburn, T.P.; "Trace amine receptors as targets for novel therapeutics: legend, myth and fact." *Curr. Opin. Pharmacol.* **2003**, 3, 90-97;
- [0026] [9] Premont, R.T. et al.; "Following the trace of elusive amines." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 9474-9475;

- [0027] [10] Mousseau, D.D. and Butterworth, R.F.; "A high-affinity [³H] tryptamine binding site in human brain." *Prog. Brain Res.* **1995**, *106*, 285-291;
- [0028] [11] McCormack, J.K. et al.; "Autoradiographic localization of tryptamine binding sites in the rat and dog central nervous system." *J. Neurosci.* **1986**, *6*, 94-101;
- [0029] [12] Dyck, L.E.; "Release of some endogenous trace amines from rat striatal slices in the presence and absence of a monoamine oxidase inhibitor." *Life Sci.* **1989**, *44*, 1149-1156;
- [0030] [13] Parker, E.M. and Cubeddu, L.X.; "Comparative effects of amphetamine, phenylethylamine and related drugs on dopamine efflux, dopamine uptake and mazindol binding." *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1988**, *245*, 199-210;
- [0031] [14] Lindemann, L. et al.; "Trace amine associated receptors form structurally and functionally distinct subfamilies of novel G protein-coupled receptors." *Genomics* **2005**, *85*, 372-385.

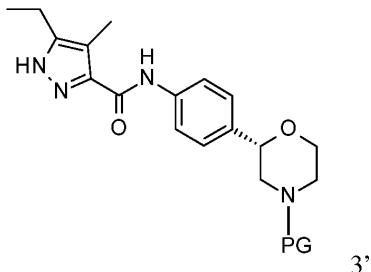
발명의 내용

[0032] 본 발명의 목적은, 신규한 화학식 I의 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이들의 미량 아민 결합 수용체의 생물학적 기능과 관련된 질환의 치료를 위한 용도; 이들의 제조 방법; 및 우울증, 불안 장애, 양극성 장애, 주의력 결핍 과잉행동 장애, 스트레스-관련 장애, 정신병적 장애, 예컨대 정신분열증, 신경계 질환, 예컨대 파킨슨병, 신경퇴행성 장애, 예컨대 알츠하이머병, 뇌전증, 편두통, 물질 남용, 중독 및 대사 장애, 예컨대 섭식 장애, 당뇨병, 당뇨병성 합병증, 비만, 이상지질혈증, 에너지 소모 및 동화 장애, 체온 항상성 장애 및 기능부전, 수면 및 생리기능 주기 장애 및 심혈관계 장애와 같은 병의 제어 또는 예방을 위한 본 발명에 따른 화합물에 기초한 약제이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

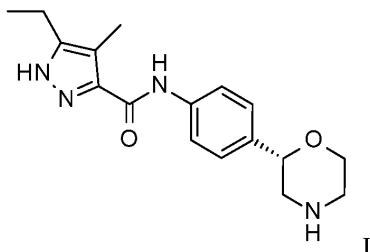
[0033] 본 발명의 화학식 I의 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 하기에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있고, 상기 방법은,

[0034] a) 구조식



[0035]

[0036] 의 화합물로부터 N-보호기(PG)를 절단(cleaving off)하여, 하기 화학식 I의 화합물을 수득하는 단계:



[0037]

[0038] [상기 식에서, PG는 -C(0)O-3급-부틸(BOC)로부터 선택되는 N-보호기이다], 및

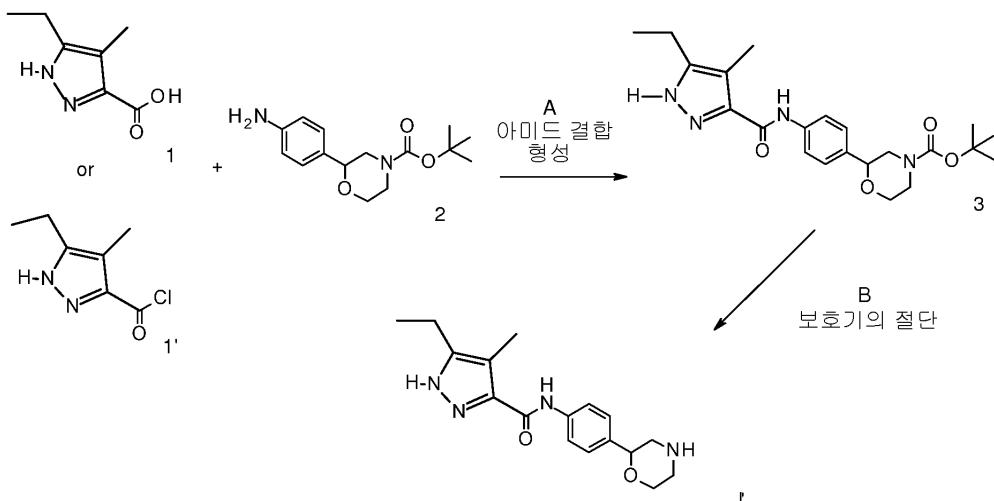
[0039] b) 필요한 경우, 수득된 화합물을 약학적으로 허용가능한 산 부가 염으로 전환시키는 단계

[0040] 를 포함한다.

[0041]

일반 절차

[0042]

반응식 1

[0043]

[0044]

출발 물질 1, 1' 및 2는 상업적으로 입수 가능하거나 당업계에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 라세미 tert-부틸 2-(4-아미노페닐)모폴린-4-카복실레이트(CAS RN: 1002726-96-6)는 시판 중이다. tert-부틸 (2R)-2-(4-아미노페닐)모폴린-4-카복실레이트(CAS RN: 1260220-42-5)는 시판 중이다. (2S)-2-(4-아미노페닐)모폴린-4-카복실레이트(CAS RN: 1260220-43-6)는 상업적으로 입수 가능하거나, 예컨대 문헌[Trussardi, R. & Iding, H, PCT Int. Appl. WO 2015/086495 A1]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0045]

단계 A: 아미드 결합 형성은, 할로겐화된 용매, 예컨대 디클로로메탄 또는 1,2-디클로로에탄, 또는 에테르계 용매, 예컨대 디에틸 에테르, 디옥산, THF, DME 또는 TBME 중에서 DCC, EDC, TBTU 또는 HATU와 같은 커플링체의 존재하에 트리에틸아민, N,N-디이소프로필에틸아민 또는 N-메틸모폴린과 같은 유기 염기의 존재하에 아민 2와 카복실산 화합물 1 사이의 커플링 반응에 의해 달성될 수 있다. 바람직한 조건은 50-60°C에서 12-48 시간 동안 THF 중 N-메틸모폴린과 함께 TBTU를 사용하는 것이다.

[0046]

다르게는, 아미드 결합 형성은 할로겐화된 용매, 예컨대 디클로로메탄 또는 1,2-디클로로에탄, 또는 에테르계 용매, 예컨대 디에틸 에테르, 디옥산, THF, DME 또는 TBME 중에서 트리에틸아민 또는 N,N-디이소프로필에틸아민과 같은 유기 염기의 존재하에 아민 2와 아실 클로라이드 화합물 1' 사이의 커플링 반응에 의해 달성될 수 있다. 바람직한 조건은 실온에서 18 시간 동안 THF 중 트리에틸아민을 사용하는 것이다.

[0047]

필요한 경우, 아실 클로라이드 화합물 1'은 할로겐화된 용매, 예컨대 디클로로메탄 또는 1,2-디클로로에탄, 또는 에테르계 용매, 디에틸 에테르, 디옥산, THF, DME 또는 TBME 중에서 촉매, 예컨대 DMF의 존재하에 옥살릴 클로라이드로 처리함으로써 상응하는 카복실산 1로부터 동일 반응계에서 제조될 수 있다.

[0048]

바람직한 조건은 실온에서 1 시간 동안 디클로로에탄이다.

[0049]

다르게는, 아실 클로라이드 화합물 1'은, 문헌[Ghosez and co-workers (*J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1979, 1180; *Org. Synth.* 1980, 59, 26-34)]의 방법에 따라 디클로로메탄 중 1-클로로-N,N,2-트리메틸프로펜일아민 [CAS 26189-59-3]으로 처리한 후, 진공에서 용매를 제거하여 상응하는 카복실산 1로부터 동일 반응계에서 제조한다.

[0050]

단계 B: BOC N-보호기의 제거는 CH₂Cl₂, CHCl₃, THF, MeOH, EtOH 또는 H₂O와 같은 용매 중에서 HCl, H₂SO₄ 또는 H₃PO₄와 같은 무기산 또는 CF₃COOH, CHCl₂COOH, HOAc 또는 p-톨루엔 술폰산과 같은 유기산으로 0 내지 80°C에서 수행될 수 있다.

[0051]

바람직한 조건은 80°C에서 3 시간 동안 수성 아세토 니트릴 중 CF₃COOH 또는 실온에서 16 시간 동안 디옥산 중 4 N HCl을 사용하는 것이다.

[0052]

라세미 출발 물질 2가 사용되는 경우, 모폴린 화합물 I'의 생성된 라세미 혼합물을 키랄 HPLC를 사용하여 그의 구성 거울상 이성질체로 분리될 수 있다. 다르게는, 거울상 이성질적으로 순수한 화합물 2로부터 출발시킴으로

써 거울상 이성질적으로 순수한 형태로 화합물 I을 수득할 수 있다.

[0053] 화합물의 단리 및 정제

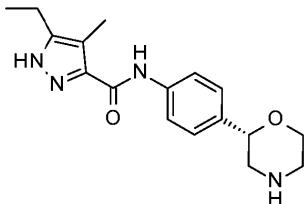
본원에 기재된 화합물 및 중간체의 단리 및 정제는 필요한 경우 예를 들어 여과, 추출, 결정화, 칼럼 크로마토그래피, 박층 크로마토그래피, 후층 크로마토그래피, 분취용 저압 또는 고압 액체 크로마토그래피 또는 이를 절차의 조합과 같은 임의의 적합한 분리 또는 정제 절차에 의해 수행될 수 있다. 적합한 분리 및 단리 절차의 구체적인 예는 하기의 제조 및 실시예를 참고로 할 수 있다. 그러나 물론 다른 동등한 분리 또는 단리 절차가 사용될 수도 있다. 화학식 I의 키랄 화합물의 라세미 혼합물을 키랄 HPLC를 사용하여, 분리될 수 있다. 키랄 합성 중간체의 라세미 혼합물을 또한 키랄 HPLC를 사용하여, 분리될 수 있다.

[0055] 화학식 I의 화합물의 염

화학식 I의 화합물은 염기성이고 상응하는 산 부가염으로 전환될 수 있다. 이러한 전환은 적어도 화학량론적 양의 적절한 산 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등 및 유기산 예컨대 아세트산, 프로페온산, 글리콜산, 피루브산, 옥살산, 말산, 말론산, 숙신산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 신남산, 만델산, 메탄실폰산, 에탄실폰산, p-톨루엔실폰산, 살리실산 등으로 처리함으로써 달성된다. 전형적으로, 유리 염기는 다이에틸 에터, 에틸 아세테이트, 클로로폼, 에탄올 또는 메탄올 등과 같은 불활성 유기 용매에 용해되고, 산은 유사한 용매에 첨가된다. 온도는 0°C 내지 50°C로 유지된다. 생성 염은 자발적으로 침전되거나 덜 극 성인 용매에 의해 용액으로부터 제거될 수 있다.

[0057] 실시예 1

[0058] 5-에틸-4-메틸-N-[4-[(2S)-모폴린-2-일]페닐]-1H-피라졸-3-카복스아미드



[0059]

a) tert-부틸 (2S)-2-[4-[(5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카보닐)아미노]페닐] 모폴린-4-카복실레이트

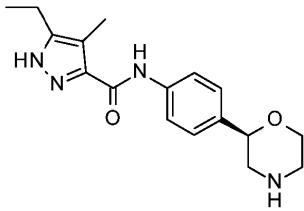
THF (8 mL) 중 tert-부틸 (2S)-2-(4-아미노페닐)모폴린-4-카복실레이트 (CAS RN: 1260220-43-6, 350mg, 1.26 mmol, 1.00 당량) 및 5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카복실산 (CAS RN: 957129-38-3, 245 mg, 1.51 mmol, 1.20 당량)의 용액에 TBTU (807 mg, 2.51 mmol, 2.00 당량) 및 N-메틸모폴린 (509 mg, 553 μl, 5.03 mmol, 4.00 당량)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 50°C에서 15 시간 동안 교반하였다. t = 15h에서 TLC는 반응이 완료되었음을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시켰다. 조 물질을 플래시 크로마토그래피 (실리카겔, 용리제: 헵탄 중 0 % → 100 % EtOAc)로 정제하여 tert-부틸 (2S)-2-[4-[(5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카보닐)아미노]페닐]모폴린-4-카복실레이트를 회백색 고체 (501 mg, 96 %)로서 수득하였다. MS (ISP): 413.7 ([M-H]⁻).

b) 5-에틸-4-메틸-N-[4-[(2S)-모폴린-2-일]페닐]-1H-피라졸-3-카복스아미드

물 (8 mL) 중 트리플루오로아세트산 (1.37 g, 918 μl, 12.0 mmol, 10 당량)의 교반된 용액에 아세토니트릴 (4 mL) 중 tert-부틸 (2S)-2-[4-[(5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카보닐)아미노]페닐]모폴린-4-카복실레이트 (497 mg, 1.2 mmol, 1.00 당량)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 80°C에서 3 시간 동안 교반하였다. t = 3 시간에서 MS는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 1 M 수성 NaOH로 2 회 추출하고, EtOAc로 2 회 추출하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공하에 농축시켰다. 조 물질을 플래시 칼럼 크로마토그래피 (실리카겔™ 아민 카트리지, 용리제: 헵탄 중 0 % → 100 % EtOAc, 이어서 EtOAc 중 0 % → 10 % MeOH)로 정제하여 5-에틸-4-메틸-N-[4-[(2S)-모폴린-2-일]페닐]-1H-피라졸-3-카복스아미드 (327 mg, 87 %)를 회백색 고체로서 수득하였다. MS (ISP) : 315.7 ([M+H]⁺).

[0064] 실시예 2 (비교예)

[0065] 5-에틸-4-메틸-*N*-[4-[(2*R*)-모폴린-2-일]페닐]-1*H*-파라졸-3-카복스아미드

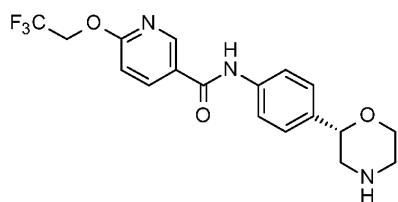


[0066]

[0067] 단계 (a)에서 (2*S*)-2-(4-아미노페닐)모폴린-4-카복실레이트 대신 (2*R*)-2-(4-아미노페닐)모폴린-4-카복실레이트 (CAS RN: 1260220-42-5)를 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 315.6 ($[M+H]^+$).

[0068] 실시예 3 (비교예)

[0069] *N*-[4-[(2*S*)-모폴린-2-일]페닐]-6-(2,2,2-트리플루오로에톡시)파리딘-3-카복스아미드

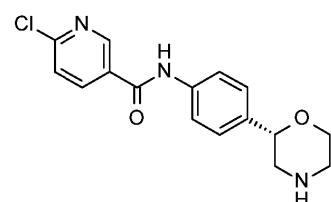


[0070]

[0071] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1*H*-파라졸-3-카복실산 대신 6-(2,2,2-트리플루오로에톡시)니코틴산 (CAS RN: 159783-29-6)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 382.1 ($[M+H]^+$).

[0072] 실시예 4 (비교예)

[0073] 6-클로로-*N*-[4-[(2*S*)-모폴린-2-일]페닐]파리딘-3-카복스아미드

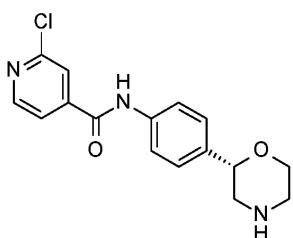


[0074]

[0075] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1*H*-파라졸-3-카복실산 대신 6-클로로-니코틴산 (CAS RN: 5326-23-8)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 320.1 ($\{^{37}Cl\}M+H^+$), 318.2 ($\{^{35}Cl\}M+H^+$).

[0076] 실시예 5 (비교예)

[0077] 2-클로로-*N*-[4-[(2*S*)-모폴린-2-일]페닐]파리딘-4-카복스아미드



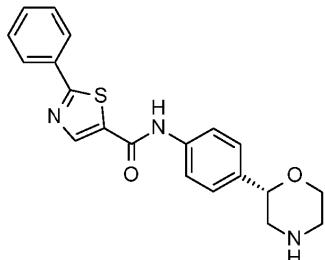
[0078]

[0079] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1*H*-파라졸-3-카복실산 대신 2-클로로-이소니코틴산 (CAS RN: 6313-54-8)을 사용하

여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 320.1 ($\{^{37}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$), 318.1 ($\{^{35}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$).

[0080] 실시예 6 (비교예)

N-[4-[(2S)-모폴린-2-일]페닐]-2-페닐-1,3-티아졸-5-카복스아미드

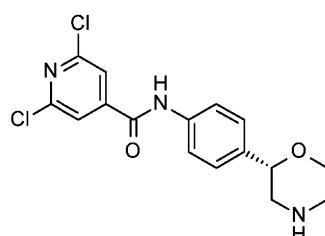


[0082]

단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카복실산 대신 2-페닐티아졸-5-카복실산 (CAS RN: 10058-38-5)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 366.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0084] 실시예 7 (비교예)

2,6-다이클로로-N-[4-[(2S)-모폴린-2-일]페닐]파리딘-4-카복스아미드

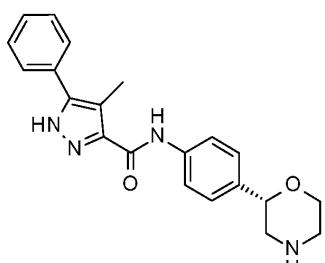


[0086]

단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카복실산 대신 2,6-다이클로로-이소니코틴산 (CAS RN: 5398-44-7)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 356.1 ($\{^{37}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$), 354.1 ($\{^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$), 352.1 ($\{^{35}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$).

[0088] 실시예 8 (비교예)

4-메틸-N-[4-[(2S)-모폴린-2-일]페닐]-5-페닐-1H-피라졸-3-카복스아미드

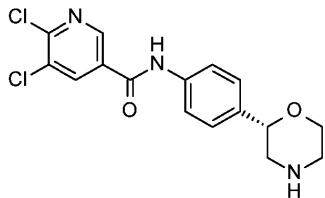


[0090]

단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카복실산 대신 4-메틸-5-페닐-1H-피라졸-3-카복실산 (CAS RN: 879770-33-9)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 363.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0092] 실시예 9 (비교예)

[0093] 5,6-다이클로로-*N*-[4-[*(2S)*-모폴린-2-일]페닐]파리딘-3-카복스아미드



[0094]

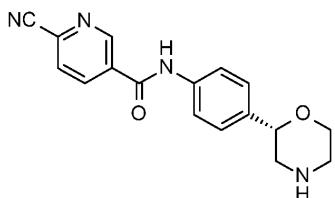
[0095] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-파라졸-3-카복실산 대신 5,6-다이클로로-니코틴산 (CAS RN: 41667-95-2)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 356.1 ($\{^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$), 354.1 ($\{^{37}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$), 352.1 ($\{^{35}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$).

[0096]

실시예 10 (비교예)

[0097]

6-시아노-*N*-[4-[*(2S)*-모폴린-2-일]페닐]파리딘-3-카복스아미드



[0098]

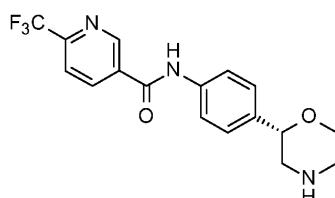
[0099] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-파라졸-3-카복실산 대신 6-시아노-니코틴산 (CAS RN: 70165-31-0)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 309.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0100]

실시예 11 (비교예)

[0101]

N-[4-[*(2S)*-모폴린-2-일]페닐]-6-(트리플루오로메틸)파리딘-3-카복스아미드



[0102]

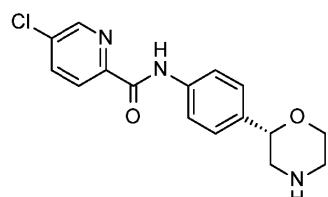
[0103] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-파라졸-3-카복실산 대신 6-(트리플루오로메틸)니코틴산 (CAS RN: 158063-66-2)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 352.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0104]

실시예 12 (비교예)

[0105]

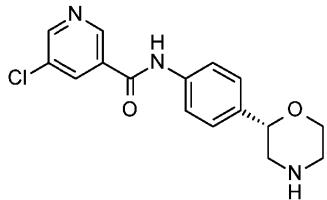
5-클로로-*N*-[4-[*(2S)*-모폴린-2-일]페닐]파리딘-2-카복스아미드



[0106]

[0107] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-파라졸-3-카복실산 대신 5-클로로-파콜린산 (CAS RN: 86873-60-1)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 320.1 ($\{^{37}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$), 318.2 ($\{^{35}\text{Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$).

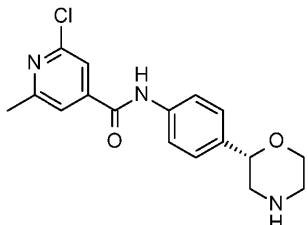
[0108] 실시예 13 (비교예)

[0109] 5-클로로-*N*-[4-[(2*S*)-모폴린-2-일]페닐]파리딘-3-카복스아미드

[0110]

[0111] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-파라졸-3-카복실산 대신 5-클로로-니코틴산 (CAS RN: 22620-27-5)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 320.1 ($[\{\text{^{37}Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$), 318.1 ($[\{\text{^{35}Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$).

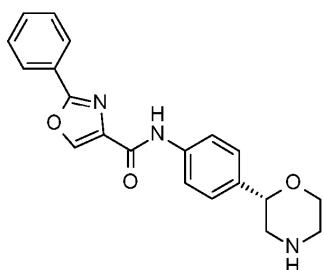
[0112] 실시예 14 (비교예)

[0113] 2-클로로-6-메틸-*N*-[4-[(2*S*)-모폴린-2-일]페닐]파리딘-4-카복스아미드

[0114]

[0115] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-파라졸-3-카복실산 대신 2-클로로-6-메틸파리딘-4-카복실산 (CAS RN: 25462-85-5)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 334.1 ($[\{\text{^{37}Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$), 332.1 ($[\{\text{^{35}Cl}\}\text{M}+\text{H}]^+$).

[0116] 실시예 15 (비교예)

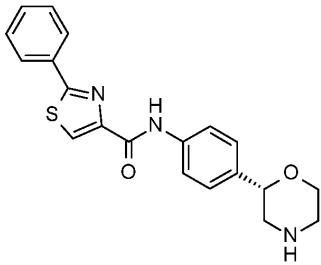
[0117] *N*-[4-[(2*S*)-모폴린-2-일]페닐]-2-페닐-1,3-옥사졸-4-카복스아미드

[0118]

[0119] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-파라졸-3-카복실산 대신 2-페닐옥사졸-4-카복실산 (CAS RN: 23012-16-0)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 350.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0120] 실시예 16 (비교예)

[0121] *N*-[4-[*(2S)*-모폴린-2-일]페닐]-2-페닐-1,3-티아졸-4-카복스아미드

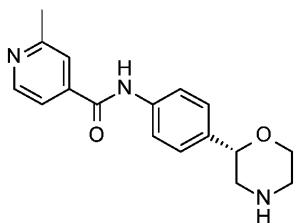


[0122]

[0123] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카복실산 대신 2-페닐티아졸-4-카복실산 (CAS RN: 7113-10-2)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 366.1 ($[M+H]^+$).

[0124] 실시예 17 (비교예)

[0125] 2-메틸-*N*-[4-[*(2S)*-모폴린-2-일]페닐]파리딘-4-카복스아미드

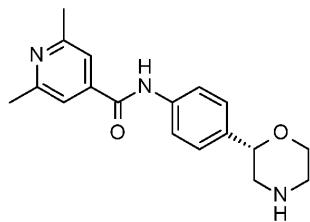


[0126]

[0127] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카복실산 대신 2-메틸-이소니코틴산 (CAS RN: 4021-11-8)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 298.2 ($[M+H]^+$).

[0128] 실시예 18 (비교예)

[0129] 2,6-디메틸-*N*-[4-[*(2S)*-모폴린-2-일]페닐]파리딘-4-카복스아미드

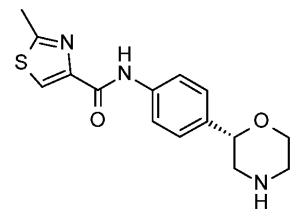


[0130]

[0131] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카복실산 대신 2,6-디메틸-이소니코틴산 (CAS RN: 54221-93-1)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 312.2 ($[M+H]^+$).

[0132] 실시예 19 (비교예)

[0133] *N*-[4-[*(2S)*-모폴린-2-일]페닐]-2-메틸-1,3-티아졸-4-카복스아미드

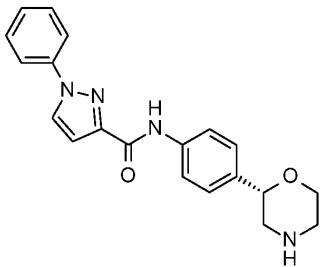


[0134]

[0135] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1H-피라졸-3-카복실산 대신 2-메틸티아졸-4-카복실산 (CAS RN: 35272-15-2)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 304.1 ($[M+H]^+$).

[0136] 실시예 20 (비교예)

[0137] *N*-[4-[*(2S)*-보풀린-2-일]페닐]-1-페닐파라졸-3-카복스아미드



[0138]

[0139] 단계 (a)에서 5-에틸-4-메틸-1*H*-파라졸-3-카복실산 대신 1-페닐-1*H*-파라졸-3-카복실산 (CAS RN: 4747-46-0)을 사용하여 실시예 1과 유사하게 표제 화합물을 수득하였다. 백색 고체. MS (ISP): 349.2 ($[M+H]^+$).

[0140] 전술한 바와 같이, 본 발명의 화합물은, 종래 기술의 화합물에 대해 상당한 장점을 가지며, 이러한 장점은, 인간 TAAR1 수용체에서의 강력한 작용제 활성, 도파민 운반체(DAT)에 대한 선택성, hERG 이온 채널에 대한 선택성 및 낮은 양친매성 벡터이므로, 약물 유발형 인지질증(DIPL)을 일으킬 위험이 적다는 것이다(하기 참조).

[0141] 종래 기술이 공지의 화합물에 비교되는 화학식 I의 화합물의 우수성 장점을 보여주기 위해 하기의 비교 데이터 및 코멘트가 제공될 수 있다.

1. 인간 미량 아민-결합 수용체 1(hTAAR1)의 부분 작용제의 약리학적 효과 및 치료 잠재성

[0143] 설치류와 사람 TAAR1 사이의 리간드-수용체 상호 작용에 중요한 종(species) 차이가 있다는 증거가 있다^[1]. 따라서, TAAR1-관련 질환의 치료를 위한 인간 치료제로서 사용하기 위한 화합물을 선택할 때, 인간 형태의 TAAR1 수용체(hTAAR1)에서 그들의 기능적 활성의 효능에 기초하여 후보 화합물을 우선순위화하는(prioritize) 것이 중요하다. hTAAR1은 수용체의 길항제, 작용제, 부분 작용제 또는 역 작용제로서 작용할 수 있는 G 단백질-결합 막 횡단 수용체(GPCR)이다. 화학식 I의 화합물 및 비교 실시예는 시험관 내에서 hTAAR1에서의 기능적 활성에 대해 시험되었으며, 이에 의해 화학식 I의 화합물은 hTAAR1의 부분 작용제인 것으로 밝혀졌다. 화학식 I의 화합물 및 비교예의 선택에 대해 실험적으로 결정된 hTAAR1 EC₅₀ 값을 하기 표 1에 나타내었다(하기 참조). 따라서, 실시예 1의 화합물은 시험관 내에서 특히 hTAAR1의 강력한 부분 작용제인 것으로 밝혀졌다.

[0144] 복부 테그멘탈(tegmental) 영역과 등 솔기 핵에서의 생체 외 전기 생리학 실험에서 TAAR1 부분 작용제는 야생형 마우스에서 DA와 5-HT 뉴런 화이어링(firing) 속도를 향상시켰지만^[2,3], p-티라민과 같은 완전 작용제는 화이어링 속도를 감소시켰다^[3,4]. 그러나, 완전 및 부분 작용제는 모두 정신 자극제 코카인의 보강(rewarding) 및 강화 효과에 대해 보호적인 것으로 나타났다^[5]. 암페타민과 같은 완전 작용제는 DA 및 5-HT 시스템에 대한 자신의 효과를 둔감시키기 위해 음성 피드백을 유도하지만^[6,7], 부분 작용제는 TAAR1을 통해 화이어링 속도를 증가시킴으로써 신경 신호 전달에 대한 이의 효과를 증가시킬 수 있다. 이러한 발견, 및 TAAR1 부분 작용제가 완전 작용제보다 설치류에서 풍부한 생체 내 약리학적 특성을 가진다는 보고 때문에^[3,8], TAAR1 부분 작용제가 정신분열증, 양극성 장애, 우울증, 과Kin증병을 포함하지만 이로 한정되지는 않는 CNS 질환의 치료, 및 알코올 및 약물 중독의 치료를 위한 인간 치료제로서의 사용에 매우 유망한 잠재성을 보이는 것을 암시하는 강력한 전임상 증거가 나타나고 있다.

[0145] 예를 들어, TAAR1 부분 작용제는, 감소된 부작용 프로파일뿐만 아니라 개선 된 인지 및 분위기의 장점을 갖는 항정신병 효능을 나타내는 것에 의해 기존의 비전형적 항정신병 약물보다 우수하다고 제안된다(예를 들어, 현재의 항정신병제에 의해 나타나는 대사 증후군의 유발이 없음)^[3,8]. 다른 문헌은, 양극성 장애^[8], 약물 중독^[5,9], 및 당뇨병^[10]을 비롯한 가능한 증상을 제시한다.

참고 문헌:

[0147] [1] Simmler, L. D.; Buchy, D.; Chaboz, S.; Hoener, M.C.; Liechti, M. E.; "In vitro characterization of psychoactive substances at rat, mouse and human trace amine-associated receptor

1". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2016**, Fast Forward article DOI: 10.1124/jpet.115.229765;

- [0148] [2] Bradaia, A. et al.; "The selective antagonist EPPTB reveals TAAR1-mediated regulatory mechanisms in dopaminergic neurons of the mesolimbic system". *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 20081-20086;
- [0149] [3] Revel, F. G. et al.; "Trace amine-associated receptor 1 partial agonism reveals novel paradigm for neuropsychiatric therapeutics". *Biol. Psychiatry* **2012**, *72*, 934-942;
- [0150] [4] Revel, F. G. et al.; "TAAR1 activation modulates monoaminergic neurotransmission, preventing hyperdopaminergic and hypoglutamatergic activity". *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 8485-8490;
- [0151] [5] Pei, Y.; Mortas, P.; Hoener, M. C.; Canales, J. J.; "Selective activation of the trace amine-associated receptor 1 decreases cocaine's reinforcing efficacy and prevents cocaine-induced changes in brain reward thresholds". *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiatry* **2015**, *63*, 70-75;
- [0152] [6] Lindemann, L. et al.; "Trace amine-associated receptor 1 modulates dopaminergic activity". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, *324*, 948-956;
- [0153] [7] Di Cara, B. et al.; "Genetic deletion of trace amine 1 receptors reveals their role in auto-inhibiting the actions of ecstasy (MDMA)". *J. Neuroscience* **2011**, *31*, 16928-16940;
- [0154] [8] Revel, F. G. et al.; "A new perspective for schizophrenia: TAAR1 agonists reveal antipsychotic- and antidepressant-like activity, improve cognition and control body weight". *Mol. Psychiatry* **2013**, *18*, 543-556;
- [0155] [9] Pei, Y.; Lee, J.; Leo, D.; Gainetdinov, R. R.; Hoener, M. C.; Canales, J. J.; "Activation of the trace amine-associated receptor 1 prevents relapse to cocaine seeking". *Neuropsychopharmacology* **2014**, *39*, 2299-2308;
- [0156] [10] Raab, S. et al.; "Incretin-like effects of small molecule trace amine-associated receptor 1 agonists". *Mol. Metabolism* **2016**, *5*, 47-56.
- [0157] 2. 약물 남용 및/또는 중독 잠재성에 대한 도파민 운반체(Dopamine transporter, DAT) 및 관련 책임
(associated liability)
- [0158] 도파민 운반체(DAT)의 약리학은 특히 정신 자극 효과와 코카인 및 MDPV와 같은 특정 정신 자극 약물의 남용 책임 및 중독 기전에 관련되어 왔다^[1-3]. 따라서, 인간을 위한 새로운 치료제의 경우, 남용 책임 또는 중독 가능성을 최소화하기 위해 도파민 운반체 DAT의 억제 또는 상호 작용을 피하는 것이 바람직하다.
- [0159] 예를 들어, 코카인의 강화 효과는 도파민 운반체(DAT)를 빠르게 차단할 수 있는 능력에 달려 있다는 증거가 제시되었다. 동물 연구에서, 코카인 이외의 도파민 재흡수 억제제는 또한 자가-투여되고, 이때 일반적으로 DAT 억제에 대한 효능과 양성 상관 관계가 있지만 세로토닌 또는 노르에피네프린 운반체(SERT, NET)는 그렇지 않다^[4-8]. 코카인을 자가-투여하도록 훈련을 받은 동물도 직접 도파민 작용제를 자가-투여할 것이다^[9-11]. 또한, 도파민 신경 말단의 파괴는 코카인 자가-투여 행동의 소멸을 초래할 수 있으며^[12,13], 이러한 효과는 다른 강화제에 의해 유지되는 응답이 보존되는 경우에도 관찰되었다^[14,15]. 인간의 경우, 코카인에 의해 유도된 "높음"은 뇌에서의 DAT 점유와 관련이 있다^[16].
- [0160] DAT가 코카인의 강화 효과에 필수적이라는 가설을 추가로 시험하기 위해, 기능적이지만 "코카인 비-민감성" DAT 가 생성되었고, 마우스에서 발현되었다^[17,18]. 이 돌연변이 DAT는, 야생형 DAT와 비교하여 코카인에 대한 친화도가 89 배 낮은 것으로 나타났으며, 이런 돌연변이 DAT를 발현하는 노크-인(knock-in)(DATki) 마우스에서 코카인은 측좌 핵(nucleus accumbens)에서 세포 외 도파민을 증가시키지 못하거나, 운동 활동 증가, 상동증(stereotypy) 또는 조건부(conditioned) 장소 선호도를 유도하지 못했다^[18-20]. 또한, 코카인은 이런 DATki 마우스에서 양성 강화제로서 역할을 하지 못했지만, 멕시, d-암페타민 및 직접 도파민 작용제는, 야생형 마우스에 필적하는 수준으로 이를 마우스에서 동작 행동(operant behavior)을 신뢰성 있게 유지했다. 특히, 복부 테그멘탈 영역(VTA)을 비롯한 뇌 영역으로 코카인 민감성 야생형 DAT의 재도입은 DATki 마우스에서 코카인 보상 행동

의 회복을 초래했다^[22]. 결론적으로, DAT를 차단하는 코카인의 능력은, DAT 차단이 코카인의 강화 효과에 중요하다는 강력한 증거를 제공하는 마우스에서의 보강 효과를 없애기에 충분하다.

- [0161] 따라서, 이러한 발견은, 인간 용도로 의도되는 새로운 치료제의 경우 남용 책임 또는 중독 잠재성의 위험을 최소화하기 위해 도파민 운반체 DAT의 억제 또는 상호 작용을 피하는 것이 매우 바람직하다는 것을 시사한다.
- [0162] 일련의 TAAR1 화합물에 대해 측정된 시험관내 DATKi를 하기 표 1에 나타내었다(하기 참조). 놀랍게도, 실시예 1은 다른 화합물보다 DAT에서 상당히 약한 리간드인 동시에 hTAAR1의 잠재적 부분 작용제이기 때문에, 실시예 1에 대한 hTAAR1/DAT 선택 비는 다른 화합물보다 현저히 높다는 것이 밝혀졌다.
- [0163] 인용 문헌:
- [0164] [1] Meil, W. M. and Boja, J. W.; "The dopamine transporter and addiction." Chapter 1, pp. 1-21 in *Neurochemistry of Abused Drugs* (Karch, S. B., Ed.), CRC Press (2008);
- [0165] [2] Simmler, L. D. et al.; "Pharmacological characterization of designer cathinones *in vitro*". *Brit. J. Pharmacol.* **2013**, *168*, 458-470;
- [0166] [3] Baumann, M. H.; Partilla, J. S.; Lehner, K. R.; "Psychoactive 'bath salts': not so soothing". *Eur. J. Pharmacol.* **2013**, *698*, 1-5;
- [0167] [4] Ritz., M. C.; Lamb, R. J.; Goldberg, S. R.; Kuhar, M. J.; "Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine". *Science* **1987**, *237*, 1219-1223;
- [0168] [5] Bergmann., J.; Madras, B. K.; Johnson, S. E.; Spealman, R. D.; "Effects of cocaine and related drugs in nonhuman primates. III. Self-administration by squirrel monkeys". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1989**, *251*, 150-155;
- [0169] [6] Howell., L. L. & Byrd, L. D.; "Serotonergic modulation of the behavioural effects of cocaine in the squirrel monkey". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1995**, *275*, 1551-1559;
- [0170] [7] Roberts, D. C. S. et al.; "Self-administration of cocaine analogs by rats". *Psychopharmacology* **1999**, *144*, 389-397;
- [0171] [8] Wee, S. et al.; "Relationship between serotonergic activity and reinforcing effects of a series of amphetamine analogs". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *313*, 848-854;
- [0172] [9] Woolverton, W. L.; Goldberg, L. I.; Ginos, J. Z.; "Intravenous self-administration of dopamine receptor agonists by Rhesus monkeys". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1984**, *230*, 678-683;
- [0173] [10] Wise, R. A.; Murray, A.; Bozarth, M. A.; "Bromocriptine self-administration and bromocriptine-reinstatement of cocaine-trained and heroin-trained lever pressing in rats". *Psychopharmacology* **1990**, *100*, 355-360;
- [0174] [11] Caine, S. B. & Koob, G. F.; "Modulation of cocaine self-administration in the rat through D-3 dopamine receptors". *Science* **1993**, *260*, 1814-1816;
- [0175] [12] Roberts, D. C. S.; Corcoran, M. E.; Fibiger, H. C.; "On the role of ascending catecholaminergic systems in intravenous self-administration of cocaine". *Pharmacol. Biochem. Behaviour* **1977**, *6*, 615-620;
- [0176] [13] Roberts, D. C. S.; Koob, G. F.; Klonoff, P.; Fibiger, H. C.; "Extinction and recovery of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens". *Pharmacol. Biochem. Behaviour* **1980**, *12*, 781-787;
- [0177] [14] Pettit, H. O.; Ettenberg, A.; Bloom, F. E.; Koob, G. F.; "Destruction of dopamine in the nucleus accumbens selectively attenuates cocaine but not heroin self-administration in rats". *Psychopharmacology* **1984**, *84*, 167-173;
- [0178] [15] Caine, S. B. & Koob, G. F.; "Effects of mesolimbic dopamine depletion on responding maintained

by cocaine and food". *J. Exp. Anal. Behavior* **1994**, *61*, 213-221;

[0179] [16] Volkow, N. D. et al.; "Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy". *Nature* **1997**, *386*, 827-830;

[0180] [17] Chen, R. ; Han, D. D. ; Gu, H. H. ; "A triple mutation in the second transmembrane domain of mouse dopamine transporter markedly decreases sensitivity to cocaine and methylphenidate". *J. Neurochem.* **2005**, *94*, 352-359;

[0181] [18] Chen, R. et al.; "Abolished cocaine reward in mice with a cocaine-insensitive dopamine transporter". *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 9333-9338;

[0182] [19] Tilley, M. R. & Gu, H. H.; "Dopamine transporter inhibition is required for cocaine-induced stereotypy". *Neuroreport* **2008**, *19*, 1137-1140;

[0183] [20] Tilley, M. R.; O'Neill, B.; Han, D.D.; Gu, H. H.; "Cocaine does not produce reward in absence of dopamine transporter inhibition". *Neuroreport* **2009**, *20*, 9-12;

[0184] [21] Thomsen, M.; Han, D.D.; Gu, H. H.; Caine, S. B.; "Lack of cocaine self-administration in mice expressing a cocaine-insensitive dopamine transporter". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *331*, 204-211;

[0185] [22] Wu, H. et al.; "Restoration of cocaine stimulation and reward by reintroducing wild type dopamine transporter in adult knock-in mice with a cocaine-insensitive dopamine transporter". *Neuropharmacology* **2014**, *86*, 31-37.

3. 심장 QT 간격 연장을위한 hERG 차단 및 관련 책임

[0186] 약물-유발성 심장 부작용을 야기할 가능성을 최소화하는 것은, 특히 만성 치료 요법에 사용되도록 의도된 약물에 대한, 인간에서의 안전한 사용을 의도하는 치료제에 매우 바람직하다. 최근 몇 년 동안, 규제 당국은, 심장 QT 간격을 연장하는 치료제의 사용에 대해 승인을 지연하거나 제한을 가하거나, 심지어 승인을 거부하거나 시장에서 제거하였다. QT 간격은, QRS 콤플렉스의 시작으로부터 심전도(ECG)의 T 파의 말단까지의 시간이며 심실 탈분극 및 재분극 기간의 척도이다. QT 간격을 연장하는 약물은 토르사데스 데 포인트(Torsades de Pointes; TdP)라고 불리는 다형질 심실성 빈맥(ventricular tachycardia)과 관련이 있다. 이 부정맥은 심각한 심혈관 결과를 초래할 수 있으며 비가역적 심실 세동 및 사망으로 진행될 수 있다. ICH S7B 규제 가이드라인^[1]은 시험관내 IK_r 분석[인간 에테르 이동 경로(ether-a-go-go) 관련 유전자(hERG)에 의해 전도되는 칼륨 전류]을 포함하는 새로운 분자 실체(NME)의 심혈관 위험을 평가하기 위한 전체적인 비-임상 전략을 권고한다. hERG의 억제는 QT 연장의 주요 메커니즘으로서 확인되었다^[2]. 그러므로, 권장되는 최소 비-임상 QT 간격 위험 제거 전략은 시험관내 hERG 분석에서 주어진 화학적 시리즈로부터의 대표적인 화합물을 시험하는 것이다. 목표는 시험관 내에서 (또는 가능한 경우 생체 내에서) 치료 활성의 농도보다 30 배 이상 낮은 농도에서 20 % 이하의 hERG 억제를 일으키는 화합물을 선택하는 것이다. TAAR1 작용제의 경우, hTAAR1 EC₅₀은 치료 활성을 예측하는 관련 시험관내 농도로서 간주될 수 있다(상기 참조). 그러므로, 비 hERG IC₂₀/hTAAR1 EC₅₀이 적어도 30 배인 TAAR1 작용제를 선택하는 것이 바람직하다.

[0187] 일련의 TAAR1 화합물에 대한 측정된 시험관내 hERG IC₂₀ 및 IC₅₀이 하기 표 1에 기재되어 있다(하기 참조).

[0188] 특히 염기성 화합물은 hERG 채널의 강력한 억제를 일으키는 경향이 있는 것으로 알려져 있다^[4]. 모든 TAAR1 화합물은 동일한 모폴리노 헤드 기를 가지므로, 모든 화합물은 유사하게 염기성인 것으로 예상된다. 염기성 잔기는 hTAAR1에서 작용제 활성에 필요하다. 놀랍게도, 실시예 1은 비교 화합물보다 현저히 약한 hERG 채널 억제제이며, 따라서 실시예 1에 대한 hERG IC₂₀/hTAAR1 EC₅₀ 비는 권장된 30 배 최소치보다 상당히 높다는 것이 밝혀졌다.

의용 문헌:

[0189] [1] ICH Guideline. "The nonclinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals (S7B)" issued as CPMP/ICH/423/02, adopted by CHMP in May 2005;

- [0192] <http://www.ich.org/products/guidelines/safety/safety-single/article/the-non-clinical-evaluation-of-the-potential-for-delayed-ventricular-repolarization-qt-interval-pro.html>
- [0193] [2] Redfern, W. S.; Carlsson, L.; Davis, A. S.; Lynch, W. G.; MacKenzie, I.; Palethorpe, S.; Siegl, P.K.; Strang, I; Sullivan, A. T.; Wallis, R.; Camm, A.J.; Hammond, T. G.; "Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development". *Cardiovasc. Res.* 2003, 58, 32-45;
- [0194] [3] Helliwell, R. M.: "Potassium Channels". *Methods in Molecular Biology* (Totowa, NJ, United States) 2008, 491, 279-295;
- [0195] [4] Zolotoy, A. B.; Plouvier, B. P.; Beatch, G. B.; Hayes, E. S.; Wall, R. A.; Walker, M. J. A.; "Physicochemical determinants for drug-induced blockade of hERG potassium channels: Effect of charge and charge shielding". *Curr. Med. Chem. - Cardiovascular & Hematological Agents* 2003, 1, 225-241.
- [0196] 4. 약물-유발성 인지질증(DIPL)에 대한 양친매성 및 관련 책임
- [0197] 인지질증(PLD)은 조직 내에 인지질이 과도하게 축적되는 것을 특징으로 하는 리소좀성 저장 장애이다^{[1][2][3]}. 항우울제, 항협심증제, 항말라리아제 및 콜레스테롤 저하제를 포함한 많은 양이온성 양친매성 약물이 동물과 인간에서 약물-유발성 인지질증(DIPL)을 일으키는 것으로 보고되었다. DIPL의 메커니즘은 영향을 받은 세포(affected cell)의 리소좀과 산성 소포 내에서의 DIPL 약물의 포획 또는 선택적 흡수에 관여한다. 약물 포획에 이어서, 내부의 리소좀 막 내에서 약물-인지질 복합체의 점진적 축적이 뒤따른다. 소화되지 않은 물질이 증가하면 조직에 다중-라멜라 체(골수체)가 비정상적으로 축적된다. 인지질증은 일차적으로 저장 장애로 간주되지만, 일부 화합물의 경우 저장 장애는 염증 및 괴사와 관련되어 영향을 받은 조직의 기능 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다. 따라서, 치료 약물이 DIPL을 유발할 위험을 제기하지 않아야 하는 것이 매우 바람직하다. 이는, 예컨대 정신분열증, 양극성 장애 또는 우울증과 같은 만성 정신 장애의 치료를 의도하는 약물, 또는 당뇨병과 같은 만성 대사 장애의 치료를 의도하는 약물과 같이 만성적 사용을 의도하는 약제의 경우에 특히 적용된다.
- [0198] DIPL은 특히 양이온성 양친매성 약물(CAD)과 관련된 것으로 알려진 부작용이다^[4]. DIPL을 피하려면, 화합물의 염기성 pKa(염기성 pKa < 6.3) 또는 양친매성($\Delta \Delta G_{am}$ = - 6 kJ mol⁻¹)을 감소시켜야 한다^[5]. 화합물은 염기성 pKa 값이 6.3 미만이거나 양친매성이 $\Delta \Delta G_{am}$ = - 6 kJ mol⁻¹ 초과인 경우 DIPL 음성으로 분류된다. 주어진 화합물에 대한 양친매성은 문자 구조식으로부터 직접 인실리코(*in silico*) 방식으로 계산될 수 있으며^[6], 따라서 화합물의 대형 세트에 대한 실험적으로 결정된 인지질증을 포함하는 컴퓨터형 트레이닝 세트로부터 추출된 파라미터에 기초한 예측 알고리즘이 하기 기준에 따라 정의된 DIPL 위험 분류를 사용하여 화합물에 대한 DIPL에 대한 예측된 위험도 인실리코 방식으로 계산될 수 있다^[5]:
- [0199] 양친매성 벡터 > -5.0 kJ/mol 및 BPKA1 <= 5.60은 음성 DIPL 예측을 제공하고;
- [0200] -7.0kJ/mol < 양친매성 벡터 <-5.0kJ/mol 및/또는 7.0 > BPKA1 > 5.60은 경계선 DIPL 예측을 제공하고;
- [0201] 양친매성 벡터 <-7.0 kJ/mol 및 BPKA1 > 7.00은 양성 DIPL 예측을 제공한다.
- [0202] 일련의 TAAR1 화합물에 대한 계산된 양친매성($\Delta \Delta G_{am}$ (kJ mol⁻¹)) 및 인실리코 방식의 DIPL 위험 예측(음성/경계선/양성)을 하기 표 1에 나타내었다(하기 참조).
- [0203] 모든 TAAR1 화합물은 동일한 모폴리노 헤드 기를 가지고 있으므로, 모든 화합물의 염기성 pKa는 매우 유사하고 명백하게 6.3 초파이다. 염기성 잔기는 hTAAR1에서 작용제 활성에 필요하다. 따라서, DIPL을 피하는 유일한 방법은 문자 골격의 친유성(lipophilicity)을 감소시키는 것이다. 놀랍게도, 실시예 1의 경우 친유성은 유사한 화합물에 대한 결과에 기초한 예상치보다 상당히 크게 감소되었고, 따라서 실시예 1의 양친매성은 뚜렷하게 감소되고, 결과적으로 이 화합물은 DIPL을 유발하는 것으로 예측되지 않는다.
- [0204] 외용 문헌:
- [0205] [1] Anderson, N.; Borlak, J.; "Drug-induced phospholipidosis". *FEBS Lett.* 2006, 580, 5533-540;

- [0206] [2] Reasor, M. J.; Hastings, K. L.; Ulrich, R. G.; "Drug-induced phospholipidosis: issues and future directions". *Expert Opin. Drug Safety* 2006, 5, 567-83;
- [0207] [3] Nonoyama, T.; Fukuda, R.; "Drug induced phospholipidosis pathological aspects and its prediction". *J. Toxicol. Pathol.* 2008, 21, 9-24;
- [0208] [4] Lullmann, H.; Lullmann-Rauch, R.; Wassermann, O.; "Lipidosis induced by amphiphilic cationic drugs." *Biochem. Pharmacol.* 1978, 27, 1103-8;
- [0209] [5] Fischer, H.; Atzpodien, E. A.; Csato, M; Doessegger, L.; Lenz, B.; Schmitt, G.; Singer, T.; "In silico assay for assessing phospholipidosis potential of small drug like molecules: training, validation and refinement using several datasets." *J. Med. Chem.* 2012, 55, 126-139;
- [0210] [6] Fischer, H.; Kansy, M.; Bur, D.; "CAFCA: a novel tool for the calculation of amphiphilic properties of charged drug molecules". *Chimia* 2000, 54, 640-645.

[0211] 화합물들을 후술되는 시험에 따라 조사하였다.

재료 및 방법

인간 TAAR1

[0214] 발현 플라스미드의 제조를 위해, 인간 TAAR1의 코딩 서열을 본질적으로 린데만(Lindemann) 등의 문헌에 기술된 바와 같이 게놈 DNA로부터 증폭하였다^[14]. 익스팬드 하이 퍼델리티 PCR 시스템(Expand High Fidelity PCR System)(로슈 다이아그노스틱스(Roche Diagnostics))을 1.5 mM Mg²⁺와 함께 사용하고, 정제한 PCR 산물을 제조사의 지시에 따라 pCR2.1-TOPO 클로닝 벡터(인비트로젠(Invitrogen))에 클로닝했다. PCR 산물을 pIREneo2 벡터(미국 캘리포니아주 팔 알토 소재 BD 클론테크(Clontech))에 서브클로닝하고, 발현 벡터의 서열을 세포주에 도입하기 전에 확인하였다.

[0215] HEK293 세포(ATCC # CRL-1573)를 본질적으로 린데만 등의 문헌(2005)에 기술된 바와 같이 배양하였다. 안정하게 형질감염된 세포주의 생성을 위해, HEK293 세포를 제조사의 지시에 따라 리포펙타민(Lipofectamine) 2000(인비트로젠)을 사용하여 (상기와 같은) TAAR 코딩 서열을 함유한 pIREneo2 발현 플라스미드로 형질감염시키고, 형질감염 24시간 후 배양 배지에 1 mg/mL G418(스위스 부흐 소재 시그마(Sigma))을 보충하였다. 약 10일 동안 배양한 후, 클론을 단리하고, 확장하고, 제조사에 의해 제공된 비-아세틸화 면역분석(EIA) 방법에 따라 cAMP 바이오틸렉(Biotrak) 효소 EIA 시스템(아머샴(Amersham))을 사용하여 미량 아민(모두 시그마로부터 구입함)에 대한 반응성에 대해 시험하였다. 15회 계대배양의 배양 기간 동안 안정한 EC₅₀를 나타내는 단일 클론 세포주를 모든 후속 연구에 사용하였다.

[0216] cAMP 측정을 이전에 기재된 바와 같이 수행하였다(문헌[Revel et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2011, 108, 8485-8490]). 요약하면, 인간 TAAR1을 발현하는 세포를 96-웰 플레이트(BIOCOAT 6640; 스위스 알쉬빌 소재의 벡톤 디킨슨(Becton Dickinson))에 플레이팅하고, 37°C에서 20 시간 동안 배양하였다. 37°C에서 30 분 동안 넓은 농도 범위의 작용제로 세포를 자극하기 전에, 세포를 PBS로 세척하고, 37°C 및 5 % CO₂에서 10 분 동안 1 mM 3-이소부틸-1-메틸잔틴을 함유하는 PBS로 예비배양하였다. 0.2 % DMSO를 이용한 자극을 기준 수준으로 설정하고, 30 μM β-PEA의 효과를 최대 반응으로 설정하였다. 이어서, 세포를 용해시키고, cAMP 분석을 제조사의 설명서(cAMP 키트; 업스테이트/밀리포어(Upstate/Millipore), 스위스 샤프하우젠)에 따라 수행하였다. 마지막으로, 플레이트를 휙도계(1420 멀티라밸 카운터; 스위스 쉬베르겐바흐 소재의 퍼킨엘머)로 판독하고, cAMP 양을 계산하였다. 결과는 최소한 세 번의 독립적인 실험에서 수득되었다. 실험은 2 내지 3 회 실시되었다. EC₅₀ 값은 평균 ± 표준 편차(μM)로 표시된다. TAAR1에서의 기능 활성 데이터에 대한 E_{max} 값은 내인성 리간드 및 완전 작용제 β-PEA에 대한 100 %와 비교된 기능 활성 정도를 나타낸다.

인간 DAT

[0218] 시험관 내에서의 도파민 운반체(DAT)에 대한 결합.

[0219] 인간 DAT로 안정하게 형질감염된 인간 배아 신장(HEK) 293 세포(스위스 주그 소재의 인비트로젠(Invitrogen))를 배양하였다. 세포를 수집하고, 인산-완충된 식염수(PBS)로 3 회 세척하였다. 펠릿을 -80°C에서 동결시켰다.

그 후, 펠릿을 4°C에서 10 mM EDTA를 함유한 pH 7.4의 20 mM HEPES-NaOH 400 ml에 재현탁시켰다. 분당 10000 회전(rpm)으로 폴리트론(스위스 루체르네 소재의 키네마티카)으로 15 초 동안 균질화시킨 후, 균질물을 4 °C에서 30 분 동안 48000 x g에서 원심분리시켰다. 막 스톡(stock)의 분취물을 -80°C에서 동결시켰다. 모든 분석은 적어도 3 회 수행되었다. 시험 화합물을 20 μl의 결합 완충액(252 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 20 mM Na₂HPO₄, 3.52 mM KH₂PO₄, pH 7.4)으로 희석하고, 10 점 희석 곡선을 만들고, 96-웰 백색 폴리스티렌 검정 플레이트(스위스 부흐스 소재의 시그마-알드리치)로 옮겼다. [³H]-WIN35,428(약 86 Ci/mmol, 퍼킨-엘머)은 DAT 분석을 위한 방사성 리간드이고, 12 nM의 K_d를 가졌다. 50 μL의 [³H]-WIN35,428(약 40nM 농도)을 최종 [³H]-WIN35,428 농도가 10nM이 되도록 hDAT 분석 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 분석 플레이트에 있는 단독의 결합 버퍼 20 마이크로리터가 총 결합을 정의한 반면, 10 μM 인다트랄린의 존재 하에서의 결합은 비특이적 결합을 정의했다. 냉동 DAT 막 스톡을 해동하고, 폴리트론 조직 균질화기를 사용하여 약 0.04 mg 단백질/ml 결합 완충액(H₂O 중에서 1:1로 희석)의 농도로 재현탁시켰다. 막 균질화물(40 μg/ml)을 7.7 mg 비드/ml 균질물로 폴리비닐 틀루엔(PCT) 밀 배아 응집소-코팅된 섬광 근접 분석(WGSPA; 아머샴 바이오사이언시스) 비드와 함께 5-30 분 동안 가볍게 혼합하였다. 막/비드 혼합물 130 마이크로리터를 방사성리간드 및 시험 화합물을 함유하는 분석 플레이트의 각 웰(각 웰의 최종 부피, 200 μl)에 첨가하여 분석을 시작하였고, 이를 교반하면서 약 2 시간 동안 실온에서 배양하였다. 이어서, 팩커드 탑카운트(Packard Topcount)의 PVT SPA 계수 모드에서 분석 플레이트를 계수하였다. 50 μL의 [³H]-WIN35428 스톡을 팩커드 1900CA 액체 섬광 계수기에서 5 ml의 레디세이프(ReadySafe) 섬광 카테일(베크만 인더스트리즈)로 계수하여 각각의 분석에 추가된 총 카운트를 결정하였다. 사인파 곡선에 데이터를 피팅하고 결합 및 흡수에 대한 IC₅₀ 값을 결정하기 위해 비선형 회귀법이 사용되었다. 청-프루소프(Cheng-Prusoff) 식 Ki = IC₅₀/(1 + [S]/K_m)을 사용하여 결합 및 흡수에 대한 K_i 값을 계산하였다.

[0220] 인간 ERG(hERG)

근 생리 온도(36 ± 1°C)에서 안정하게 형질감염된 CHO 세포에서 hERG(인간 에테르 이동 경로 관련 유전자) 캘륨 채널에 대한 시험 항목의 효과를 조사하기 위해 전체 세포 패치-클램프 기술을 이용하였다. hERG 채널을 안정적으로 발현하는 적어도 3 개의 CHO 세포에서 4 가지 농도(0.3-3-30-300 μM)에서 hERG K⁺-전류 파라미터에 대한 화합물의 효과를 평가하였다. 전기생리학적 측정을 위해 세포를 하이그로마이신 B가 없는 2ml 배지에 함유하는 35mm 멸균 배양 접시에 시딩하였다. 세포는 단일 세포(이웃 세포와의 가시적인 연결 없음)를 측정할 수 있는 밀도로 배양되었다. 세포를 5 % CO₂(상대 습도 약 95 %)의 습윤 분위기에서 37°C에서 배양했다. 10 % 테아 소 혈청 및 10 % 페니실린/스트렙토마이신 용액이 보충된 영양제 혼합물 F-12(L-글루타민을 함유하는 DMEM/F-12)를 함유하는 멸균 배양 플라스크에서 세포를 연속적으로 유지시키고 통과시켰다. 상기 방법의 정확성을 보장하기 위해 매일 적어도 세 개의 세포를 선택적 IK_r 차단제(E-4031, 기준 물질)로 처리했다. 단일 세포가 기록될 수 있는 밀도로 세포를 시딩한 35mm 배양 접시를 현미경의 접시 홀더에 놓고, 근 생리 온도(36 ± 1°C)에서 욕 용액(염화나트륨 150mM, 염화칼슘 4 mM, 염화칼슘 1.2 mM, 염화마그네슘 1 mM, HEPES 10 mM, pH (NaOH) 7.4)으로 연속적으로 (대략 1ml/분으로) 관류시켰다. 패치 전극과 개별 hERG 안정적으로 형질 감염된 CHO 세포 사이에 기가옴(Gigaohm) 밀봉의 형성 후에(피펫 저항 범위: 2.0MΩ - 7.0MΩ; 밀봉 저항 범위: > 1GΩ), 피펫 팁을 가로지르는 세포막은 파열되어 셀 내부(전체 셀 패치 구성)로 전기적 접근을 보장하였다. 밀봉의 품질이 불량한 경우, 다른 셀 및 새로운 피펫으로 밀봉 형성 과정을 반복하였다. 안정한 밀봉이 이루어지자마자, hERG 외부 테일 전류를 세포막의 탈분극시 50 ms 동안 -40mV로 측정한 다음, -80mV의 유지 전위에서 +20mV(채널 활성화)에서 500ms 동안 측정하고, 이어서 재분극 시에 -40 mV로 50 ms 동안 측정하였다. 이 전압 프로토콜은 10 초 간격으로 최소 10 회 실행되었다. 전류 밀도가 측정하기에 너무 낮다고 판단되면, 다른 세포를 기록하였다. 대조군 기록이 달성되면, 세포를 시험 항목을 함유하는 욕 용액으로 연속적으로 관류시켰다. 시험 항목을 세척하는 동안, 상기에 기재된 전압 프로토콜은 정상-상태 수준의 블록에 도달될 때까지 10 초 간격으로 연속적으로 다시 수행되었다. 화합물의 4 가지 시험 항목 농도를 누적 방식으로 3 개의 세포에 순차적으로 적용하였다. 시험 항목에 의해 hERG 테일 전류가 억제됨에 따라, 농도-응답 곡선이 생성되고 IC₅₀ 값을 계산된다. IC₅₀ 값에 기초하여 IC₂₀을 추정하였다. 시험 항목의 각 농도는 세 번의 실험(n = 3)에서 분석되었다.

[0222] 양친매성 벡터($\Delta\Delta G_{am}$) 계산 및 인실리코 방식의 DIPL 예측

[0223] 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{\text{am}}$) 및 인실리코 방식의 DIPL 예측은 공개된 알고리즘(문헌[Fischer, H.; Kansy, M.; Bur, D.; "CAFCA: a novel tool for the calculation of amphiphilic properties of charged drug molecules". *Chimia* 2000, 54, 640-645]; [Fischer, H.; Atzpodien, E. A.; Csato, M; Doessegger, L.; Lenz, B.; Schmitt, G.; Singer, T.; "In silico assay for assessing phospholipidosis potential of small drug like molecules: training, validation and refinement using several datasets." *J. Med. Chem.* 2012, 55, 126-139])에 따라 화학식 I의 화합물 및 비교 화합물에 대한 분자 구조식으로부터 컴퓨터를 이용하여 결정되었다.

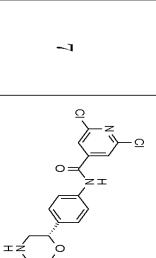
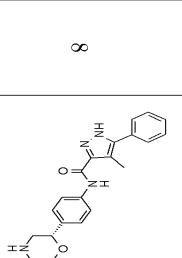
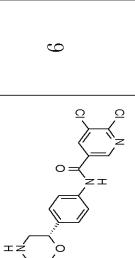
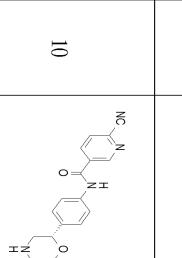
[0224] 화학식 I의 화합물은 표 1에 나타낸 바와 같이 hTAAR1에 대한 부분 작용제 활성(EC₅₀ (μM)), hDAT에서의 결합 친화도(K_i (μM)), 및 hERG에서의 채널 차단 활성(IC₂₀ 및 IC₅₀ (μM))을 갖는다. 표 1은 또한, 전술된 절차를 사용하여 계산된, 화학식 I의 화합물 및 비교 화합물에 대한 계산된 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{\text{am}}$ (in kJ mol^{-1})) 및 인실리코 방식의 인지질증 평가(시험관내 DIPL 및 생체 내 DIPL에 대한 음성/양성/경계선 예측)를 보여 준다.

[0225]

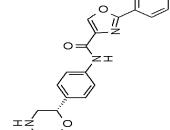
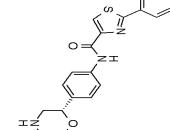
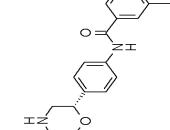
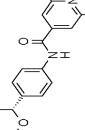
[표 1]

실험 번호	화학식 I	hTAAR1 EC ₅₀ μM		hERG IC ₅₀ μM		hERG IC ₂₀ / EC ₅₀ μM		hTAAR1 EC ₅₀ kJ mol^{-1}		인지질증 $\Delta \Delta G_{\text{am}}$ (시험관내)	인 실리코 인지질증 (생체내)	인 실리코 인지질증 (생체내)	DAT Ki/ hTAAR1 EC ₅₀ μM	DAT Ki/ hTAAR1 EC ₅₀ μM
		부호	%	부호	%	부호	%	부호	%					
2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		0.2632	38	-	-	-	-	216.60	36.20	619	-3.47	음성	27.53	471

[0226]

7		0.0849	57	11.39	3.67	43	-7.41	૦૧૪	૦૧૪	0.79
8		0.1086	33	10.78	3.01	28	-4.89	૦૧૪	૦૧૪	9.77
9		0.1437	32	4.46	1.14	8	-8.83	૦૧૪	૦૧૪	0.48
10		0.1837	38	31.72	5.78	31	-3.11	૦૧૪	૦૧૪	11.30
										62

[0229]

15		0.6632	35	9.65	2.40	4	-7.4	양성	양성	>26.1	>39
16		0.666	35	8.98	3.35	5	-8.48	양성	양성	16.22	24
17		0.6727	45	518.2	129.55	193	-4.53	양성	양성	10.32	15
18		0.8271	63	711.5	146.78	177	-5.82	양성	양성	>26.1	>39

[0231]

[0232]

* hTAAR1에 대한 작용제 활성 %는, 내인성 리간드 β -페닐에틸아민의 효과가 100% 애그니즘(agonism)이 되도록 보정된 스케일로 기록된다.

[0233]

놀랍게도, 화학식 I의 화합물(실시예 1)은, 종래 기술의 다른 TAAR1 화합물에 비해 hTAAR1에서의 강력한 작용제 활성, hDAT에 대한 높은 선택성, hERG에 대한 높은 선택성, 낮은 양친매성 백터 및 결과적으로 낮은 인지질증 위험의 관점에서 전반적인 우수한 특성들의 조합을 나타낸다는 것이 발견되었다. 표 1의 검사는, 실시예 1이 hTAAR1에서 강력한 부분 작용제 활성($EC_{50} = 0.059 \mu M$)을 갖고, hDAT에 대해 고도로 선택적이며($K_i = 27.5 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 대비 471 배), hERG에 대해 고도로 선택적이고($IC_{20} = 36.2 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 대비 619 배), 인지질증에 대한 관심대상의 문턱 값보다 훨씬 낮은 낮은 양친매성 백터($\Delta \Delta G_{am} = -3.47 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖는다(컴퓨터내 DIPL 위험 예측 = 음성).

[0234]

표 1의 검사는, 실시예 1의 가까운 유사체가 하나 이상의 측면에서 실시예 1과 비교하여 열등한 특성을 가짐을 밝혔다.

- [0235] 예를 들어, 실시예 1의 R 거울상 이성질체인 비교예 2는, hTAAR1에서 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.2632 \mu M$), 이는 실시예 1에서와 같은 절대 입체 화학의 S 배열이 hTAAR1에서 더 높은 효능을 수득하기 위해 바람직함을 교시한다.
- [0236] 비교예 3은 hERG에서 훨씬 더 효능이 있고($IC_{20} = 1.97 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 52 배), 또한 상당히 높은 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{am} = -6.3 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.
- [0237] 비교예 4는 DAT에서 훨씬 더 효능이 있고($K_i = 2.5 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 40 배), 보다 높은 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{am} = -5.3 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 경계선 DIPL 예측을 갖는다.
- [0238] 비교예 5는 DAT에서 훨씬 더 효능이 있고($K_i = 1.5 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 23 배), 보다 높은 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{am} = -5.9 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 경계선 DIPL 예측을 갖는다.
- [0239] 비교예 6은 hERG에서 훨씬 더 효능이 있고($IC_{20} = 0.38 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 5 배), DAT에서 훨씬 더 효능이 있고($K_i = 5.9 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 74 배), 또한 상당히 높은 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{am} = -8.46 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.
- [0240] 비교예 7은 hERG에서 훨씬 더 효능이 있고($IC_{20} = 3.57 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 43 배), DAT에서 훨씬 더 효능이 있고($K_i = 0.79 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 9 배), 또한 현저히 높은 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{am} = -7.41 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.
- [0241] 비교예 8은 hERG에서 현저하게 더 강력하다($IC_{20} = 3.01 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 28 배).
- [0242] 비교예 9는 hTAAR1에서 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.144 \mu M$), hERG에서 훨씬 더 효능이 있고($IC_{20} = 1.14 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 8 배), DAT에서 훨씬 더 효능이 있고($K_i = 0.48 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 3 배), 또한 현저히 높은 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{am} = -8.83 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.
- [0243] 비교예 10은 hTAAR1에서 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.184 \mu M$), hERG에서 더 강력하다($IC_{20} = 5.78 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 31 배).
- [0244] 비교예 11은 hTAAR1에서 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.203 \mu M$), hERG($IC_{20} = 2.59 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 13 배)에서 훨씬 더 효능이 있고, DAT에서 훨씬 더 효능이 있고($K_i = 2.33 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 12 배), 또한 현저히 높은 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{am} = -6.18 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.
- [0245] 비교예 12는 hTAAR1에서 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.212 \mu M$), hERG에서 훨씬 더 효능이 있고($IC_{20} = 3.21 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 15 배), DAT에서 훨씬 더 효능이 있고($K_i = 1.78 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 8 배), 또한 현저히 높은 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{am} = -6.59 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.
- [0246] 비교예 13은 hTAAR1에서 훨씬 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.405 \mu M$), hERG에서 훨씬 더 효능이 있고($IC_{20} = 9.14 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 23 배), DAT에서 훨씬 더 효능이 있고($K_i = 1.31 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 3 배), 또한 현저히 높은 양친매성 벡터($\Delta \Delta G_{am} = -6.23 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.

- [0247] 비교예 14는 hTAAR1에서 활성 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.447 \mu M$), DAT에서 활성 더 효능이 있고($K_i = 7.32 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 16 배), 또한 현저히 높은 양친매성 백터($\Delta \Delta G_{am} = - 6.96 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.
- [0248] 비교예 15는 hTAAR1에서 활성 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.663 \mu M$), hERG에서 활성 더 효능이 있고($IC_{20} = 2.40 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 4 배), 또한 현저히 높은 양친매성 백터($\Delta \Delta G_{am} = - 7.4 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.
- [0249] 비교예 16은 hTAAR1에서 활성 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.666 \mu M$), hERG에서 활성 더 효능이 있고($IC_{20} = 3.35 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 5 배), 또한 현저히 높은 양친매성 백터($\Delta \Delta G_{am} = - 8.48 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 양성 DIPL 예측을 갖는다.
- [0250] 비교예 17은 hTAAR1에서 활성 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.673 \mu M$), DAT에서 활성 더 효능이 있다($K_i = 10.32 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 15 배).
- [0251] 비교예 18은 hTAAR1에서 활성 적은 효능이 있고($EC_{50} = 0.827 \mu M$), 또한 높은 양친매성 백터($\Delta \Delta G_{am} = - 5.82 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 경계선 DIPL 예측을 갖는다.
- [0252] 비교예 19는 hTAAR1에서 활성 적은 효능이 있고($EC_{50} = 1.025 \mu M$), hERG에서 더 효능이 있다($IC_{20} = 8.32 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 8 배).
- [0253] 마지막으로, 비교예 20은 hTAAR1에서 활성 적은 효능이 있고($EC_{50} = 2.48 \mu M$), hERG에서 활성 더 효능이 있고($IC_{20} = 2.49 \mu M$; 선택성 비 = hTAAR1 EC_{50} 에 비해 1 배), 또한 현저히 높은 양친매성 백터($\Delta \Delta G_{am} = - 5.37 \text{ kJ mol}^{-1}$)를 갖고, 따라서 경계선 DIPL 예측을 갖는다.
- [0254] 그러므로, 표 1의 모든 데이터를 고려하여, 화학식 I의 화합물(실시예 1)은 인간에서의 TAAR1-관련 질환의 치료, 특히 만성 CNS 장애, 예를 들면 우울증, 불안 장애, 양극성 장애, 주의력 결핍 과잉행동 장애(ADHD), 스트레스-관련 장애, 정신병적 장애, 예컨대 정신분열증, 신경계 질환, 예컨대 파킨슨병, 신경퇴행성 장애, 예컨대 알츠하이머병, 뇌전증, 편두통, 고혈압, 중독, 물질 남용 및 대사 장애, 예컨대 섭식 장애, 당뇨병, 당뇨병 성 합병증, 비만, 이상지질혈증, 에너지 소모 및 동화 장애, 체온 항상성 장애 및 기능부전, 수면 및 생리기능 주기 장애 및 심혈관계 장애의 치료를 위한 안전하고 효과적인 치료제로서 의도되는 용도를 위한 전체적으로 가장 바람직한 화합물이다. 가장 바람직한 장애는 정신분열증, 양극성 장애 또는 우울증이다.
- [0255] 화학식 I의 화합물 및 화학식 I의 화합물의 약학적으로 허용가능한 염은 약제, 예컨대 약학 제제 형태로 사용될 수 있다. 약학 제제는 경구로, 예컨대 정제, 코팅된 정제, 당의정, 경질 및 연질 젤라틴 캡슐, 용액, 유화액 또는 혼탁액의 형태로 투여될 수 있다. 그러나, 투여는 또한 직장으로, 예컨대 좌약 형태로, 또는 비경구적으로, 예컨대 주사 용액 형태로 수행될 수 있다.
- [0256] 화학식 I의 화합물은 약학 제제의 제조를 위해 약학적으로 불활성인 무기 또는 유기 담체와 함께 가공될 수 있다. 락토스, 옥수수 전분 또는 이의 유도체, 활석, 스테아르산 또는 이의 염 등이 예컨대 정제, 코팅된 정제, 당의정 및 경질 젤라틴 캡슐을 위한 담체에 사용될 수 있다. 연질 젤라틴 캡슐에 적절한 담체는 예컨대 식물성 오일, 왁스, 지방, 반-고체 및 액체 폴리올 등이다. 그러나, 연질 젤라틴 캡슐의 경우에는, 활성 물질의 성질에 따라 통상적으로 담체가 요구되지 않는다. 용액 및 시럽을 제조를 위한 적절한 담체는 예컨대, 물, 폴리올, 글라이세롤, 식물성 오일 등이다. 좌약을 위한 적절한 담체는 예컨대, 천연 오일 또는 경화 오일, 왁스, 지방, 반-액체 또는 액체 폴리올 등이다.
- [0257] 또한, 약학 제제는 보존제, 가용화제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 감미제, 착색제, 풍미제, 삼투암 조절용 염, 완충액, 마스킹제, 산화방지제를 함유할 수 있다. 또한 약학 제제는 기타 치료적으로 유용한 물질을 더 함유할 수 있다.
- [0258] 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 치료적으로 불활성인 담체를 함유한 약제, 화학식 I의 화합물 및/또는 약학적으로 허용가능한 산 부가 염, 및 필요에 따라 하나 이상의 기타 치료적으로 유용한 물

질을 하나 이상의 치료적으로 불활성인 담체와 함께 생약 투여 형태로 제조하는 것을 포함하는 이의 제조 방법이 또한 본 발명의 목적이다.

[0259] 본 발명에 따른 가장 바람직한 징후는 중추신경계의 장애를 포함하며, 예컨대 우울증, 정신분열증 및 양극성 장애의 치료 및 예방이다.

[0260] 투여량은 광범위한 범위내에서 변할 수 있으며, 물론 각각의 특정한 경우에 개별적인 요건에 맞춰져야 한다. 경구 투여의 경우, 성인의 1일 투여량은 약 0.01 mg 내지 약 1000 mg의 화학식 I의 화합물 또는 상응하는 양의 약학적으로 허용가능한 이의 염으로 변할 수 있다. 일일 투여량은 단일 투여 또는 분할 투여로서 투여될 수 있고, 권고 제시되는 경우에는 본원에 주어진 상한치를 초과할 수도 있다.

정제 제형화(습식 과립화)

항목	성분	mg/정제			
1	화학식 I의 화합물	5	25	100	500
2	무수 락토스 DTG	125	105	30	150
3p	Sta-Rx 1500	6	6	6	30
4	미정질 셀룰로스	30	30	30	150
5	마그네슘 스테아레이트	1	1	1	1
	총	167	167	167	831

[0262]

제조 방법

[0264] 1. 항목 1, 2, 3 및 4를 혼합하고 정제수로 과립화한다.

[0265] 2. 과립을 50℃에서 건조한다.

[0266] 3. 과립을 적합한 밀링 장비에 통과시킨다.

[0267] 4. 항목 5를 첨가하고, 3분 동안 혼합하고, 적합한 압착기 상에서 압축시킨다.

캡슐 제형화

항목	성분	mg/캡슐			
1	화학식 I의 화합물	5	25	100	500
2	합수 락토스	159	123	148	---
3	옥수수 전분	25	35	40	70
4	활석	10	15	10	25
5	마그네슘 스테아레이트	1	2	2	5
	총	200	200	300	600

[0269]

제조 방법

[0271] 1. 항목 1, 2 및 3을 적합한 혼합기내에서 30분 동안 혼합한다.

[0272] 2. 항목 4 및 5를 첨가하고 3분 동안 혼합한다.

[0273] 3. 적합한 캡슐에 충전한다.